ZUR PHARMAKOKINETIK VON AMOXICILLIN UND CLAVULANSÄURE NACH ALLEINIGER UND KOMBINIERTER VERABREICHUNG (500 mg AMOXICILLIN UND 125 mg CLAVULANSÄURE)

Iris de Visser

Diss. München
1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544308_0015

Aus der Universitätskinderklinik München
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
(Direktor: Prof. Dr. K. Betke)

ZUR PHARMAKOKINETIK VON AMOXICILLIN UND CLAVULANSÄURE NACH ALLEINIGER UND KOMBINIERTER VERABREICHUNG (500 mg AMOXICILLIN UND 125 mg CLAVULANSÄURE)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Iris de Visser
aus
München

München 1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: ... Prof. Dr. Dieter Adam .....

Mitberichterstatter: .. Prof. Dr. O. Goetz .....

Dekan: ..... Prof. Dr. W. Spann .....

Tag der mündlichen Prüfung: ..... 15.12.1983 .....

Meinen lieben Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methode	
2.1.	Versuchspersonen und Versuchszeitraum	2
2.2.	Substanzen	3
2.3.	Blutentnahmen und Harnsammelperioden	3
2.4.	Verarbeitung der Proben und Konzentrationsbestimmungen	3
2.4.1.	Antibiotika - Nachweis	4
2.4.1.1.	Nachweis von Amoxicillin	4
2.4.1.2.	Nachweis der Clavulansäure	4
2.4.1.3.	Eichkurven	5
2.4.1.4.	Testsubstanzen	5
2.4.1.5.	Nachweisgrenzen und Auswertung	5
3.	Pharmakokinetische Auswertung	6
3.1.	Darstellung des Kompartimentmodell	6
3.2.	Manuelle Methode zur Bestimmung der Pharmakokinetischen Parameter	12
3.3.	Computerauswertung	14
4.	Ergebnisse	16
4.1.	Serumspiegelbestimmungen und Harnausscheidung von Amoxicillin nach oraler Gabe von Amoxicillin 500 mg und der Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure 625 mg (Augmentan^{R})	16
4.2.	Serumspiegelbestimmungen und Harnausscheidung von Clavulansäure nach oraler Applikation von Clavulansäure 125 mg sowie der Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure 625 mg (Augmentan^{R})	17
5.	Diskussion	19
6.	Zusammenfassung	28
	Literaturverzeichnis	42

1. Einleitung

Die zunehmende bakterielle Produktion von Enzymen, die die Öffnung des ß-Lactam-Rings zahlreicher Penicilline bewirken, ist eine der häufigsten Ursachen ihres verminderten Wertes bei der Chemotherapie bakterieller Infektionen.
Mit der aus der Enzymproduktion von Streptomyces clavuligerus gewonnenen Clavulansäure ist ein potenter Hemmstoff einer großen Anzahl von ß-Lactamase-Enzymen gefunden worden, der in Kombination mit nicht Penicillinase-stabilen Penicillinen, wie mit dem halbsynthetischen Breitspektrum - Penicillin Amoxicillin eine wirksame Therapie zahlreicher bakterieller Infektionen verspricht.
Die Kombination von Amoxicillin mit Clavulansäure unter dem Namen Augmentan^{R} [1)] zeigt eine gute orale Resorption und Verträglichkeit.
Während der Schutz von Amoxicillin vor ß-Lactamasen-Enzymen durch die Enzyminhibition von Clavulansäure, die selbst über eine nur schwache antibakterielle Aktivität verfügt, durch Publikationen inzwischen hinreichend belegt wurde, untersucht die vorliegende Arbeit anhand der Plasmakonzentrationen und der kumulativen Urinausscheidung von Amoxicillin und Clavulansäure im Vergleich mit der Kombination beider Präparate, ob sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Geschwindigkeit von Resorption und Ausscheidung beider Substanzen aufgrund der gleichzeitigen Darreichung in Form von Augmentan^{R} gegenüber der Einzelapplikation der Substanzen, ergibt.

1) Hersteller: Beecham Wülfing GmbH, D-4040 Neuß

2. Material und Methode

2.1. Versuchspersonen und Versuchszeitraum

Die Ermittlung der Serumkonzentrationen, der Harn-Recovery und der pharmakokinetischen Parameter nach oraler Applikation von 500 mg Amoxicillin, 125 mg Clavulansäure und von 625 mg der Kombination beider Substanzen (= Augmentan^{R}) erfolgte im sogenannten "Change-over"-Verfahren mit denselben Probanden.
Die Studie wurde an sechs männlichen und sechs weiblichen gesunden freiwilligen Probanden von denen schriftliche Einverständniserklärungen vorlagen mit einem Durchschnittsalter von 26,1 (23 - 31) Jahren und einem Durchschnittsgewicht von 63,5 (52 - 82) kg durchgeführt. Der Versuchszeitraum erstreckte sich vom 4. Juni 1980 bis 31. Januar 1981.
Die Probanden waren aufgefordert, am Vorabend des Versuchstages ihre normale Nahrung zu sich zu nehmen; Alkoholgenuß wurde, da er die renale Ausscheidung der Substanzen hätte beeinflussen können, sowohl am Vorabend des Versuchstages als auch am Versuchstag selbst nicht zugestanden. Die Versuchspersonen waren angewiesen, nüchtern zum Versuch zu erscheinen. Sie erhielten 1,5 Std. nach Versuchsbeginn ein standardisiertes Frühstück, bestehend aus zwei Brötchen ohne Butter mit Marmelade, sowie zwei Tassen koffeinfreien Kaffee, auf Wunsch mit Zucker, jedoch ohne Milch. Die Probanden waren gebeten worden, während des Versuches von sportlichen Aktivitäten Abstand zu nehmen, konnten sich aber frei bewegen.
Bei sämtlichen Versuchspersonen wurde vor Versuchsbeginn die Nierenfunktion anhand von Harnstoff-N und Serumkreatinin kontrolliert, sowie die üblichen Serum- (Transaminasen) und Blutuntersuchungen (Blutbild etc.) durchgeführt. Sowohl hier als auch bei der Anamneseerhebung zeigte sich weder vor noch während noch nach dem Versuch eine pathologische Veränderung der Befunde.

Der Mindestabstand zwischen den einzelnen oralen Gaben der drei verabreichten Substanzen betrug acht Tage.

2.2. Substanzen

Folgende Präparate wurden verabreicht:
1. Amoxicillin Trihydrat 500 mg
2. Clavulansäure Kaliumsalz 125 mg
3. Amoxicillin 500 mg + Clavulansäure 125 mg = Augmentan^{R}

Sämtliche Präparate wurden zur Verfügung gestellt von der Firma Beecham Wülfing GmbH, D-4040 Neuß.

2.3. Blutentnahmen und Harnsammelperioden

Für die Serumproben wurde bei jeder Blutentnahme eine Menge von 10 ml entnommen.
Alle Blutentnahmen erfolgten am Arm exakt 20, 40, 60, 90, 120, 180, 240 und 360 Minuten nach der oralen Gabe der jeweiligen Substanz. In jeder Untersuchungsreihe wurde der Harn in folgenden Perioden gesammelt: 0 - 2 h, 2 - 4 h, 4 - 6 h. Vor der Antibiotikagabe wurde von allen Probanden eine Serumprobe als Leerwert abgenommen. Alle Leerwerte zeigten keine antibakterielle Aktivität.

2.4. Verarbeitung der Proben und Konzentrationsbestimmungen

Sämtliche Proben wurden 10 Minuten nach erfolgter Blutentnahme bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert, das Serum abpipettiert und verarbeitet.
Bei den Urinproben wurde die Gesamtmenge bestimmt und ca. 10 ml zur weiteren mikrobiologischen Bestimmung zurückbehalten.
Die Bestimmungen der Serum- und Harnkonzentrationen erfolgte im Agar-Diffusionstest mit der Gußplatten-Versuchstechnik.
Als Base-Agar wurde Antibiotika-Medium Nr. 2 (von Oxoid LTD, Basingstoke hants; England) verwendet. 4,1 g wurden

in 200 ml Aqua dest. aufgelöst und bei 120 ° C zwanzig Minuten autoklaviert.
Als Seed - Agar wurde Standard I - Nährbouillon (Merck, Nr. 7882) verwendet. 7 ml dieses autoklavierten Nährmediums wurden, nachdem zuvor eine Suspension des jeweiligen Teststammes eingeimpft und 48 Stunden bebrütet worden war, mit den 200 ml Base - Agar gut vermischt und auf eine vorbereitete Gußplatte (3o • 30 cm) ausgegossen.

2.4.1. Antibiotika - Nachweis

2.4.1.1. Nachweis von Amoxicillin

Als Teststamm zum Nachweis der Konzentrationen von Amoxicillin diente Sarcina lutea (NTCC 8340).
Die Keimzahl der Suspension betrug nach 48 - stündiger Bebrütung einer von der Blutplatte in Nährbouillon überimpften Kolonie ca. 10^7 pro ml.
7 ml einer Suspension des Teststammes wurden mit dem Base-Agar gut durchmischt und auf einer Gußplatte ausgegossen.
Die unterste Nachweisgrenze betrug für Amoxicillin bei Verwendung des Sarcina - lutea - Stammes 0,25 µg/ml.

2.4.1.2. Nachweis der Clavulansäure

Als Teststamm zum Nachweis der Konzentrationen von Clavulansäure diente Klebsiella pneumoniae (ATCC 29665).
Die Keimzahl der Suspension von Klebsiella pneumoniae betrug nach 48 - stündiger Bebrütung einer von der Blutplatte in die Nährbouillon überimpften Kolonie ca. 10^6 pro ml.
6 ml dieser Suspension wurden mit dem Base - Agar unter Hinzugabe einer subinhibitorischen Konzentration von Benzylpenicillin (60 µg/ml Penicillin der Fa. Grünenthal) gut durchmischt und auf die Gußplatte gegossen.
Die unterste Nachweisgrenze betrug für Clavulansäure bei Verwendung des Klebsiella - pneumoniae - Stammes 0,2 µg/ml.

2.4.1.3. Eichkurven

Die zu untersuchenden Serum- und Urinproben wurden nach entsprechender Verdünnung in die zuvor mit einem sterilen Korkbohrer aus dem Agar gestanzten Löcher von 8 mm Ø in einer Menge von 45 µl eingebracht. 18 der insgesamt 63 Löcher einer Gußplatte enthielten die Standardlösung bekannter Konzentration. Zur Auswertung gelangten die Mittelwerte von je drei Messungen.
Das zu untersuchende Serum wurde in Phophatpufferlösung + Humanserum im Mischungsverhältnis 1 : 1 (ph 6,6) und der zu untersuchende Urin in Citratpufferlösung (ph 6,6) verdünnt. Aus den gefundenen Hemmhofdurchmessern wurde bei bekannter Konzentration eine Eichkurve erstellt.

2.4.1.4. Testsubstanzen

500 mg Amoxicillin : Code - Nr. BRL 2333
125 mg Clavulansäure: Code - Nr. BRL 14151

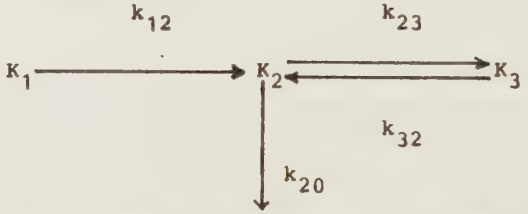
2.4.1.5. Nachweisgrenzen und Auswertung

Die unteren Nachweisgrenzen lagen für Amoxicillin bei 0,25 µg/ml, für Clavulansäure bei 0,2 µg/ml. Bei diesen Konzentrationen betrug die Größe der Hemmhöfe ca. 50 bis 55 mm Ø (die für die Ablesetechnik optimale Hemmhofgrösse betrug 60 - 100 mm Ø). Bei Verwendung eines von unten beleuchteten Ablesegerätes mit Nonius-Meßvorrichtung konnten die Hemmhöfe mit einer Ablesegenauigkeit von 1 mm für Amoxicillin innerhalb eines Bereiches von 0,25 µg/ml bis 16,5 µg/ml, für Clavulansäure von 0,2 µg/ml bis 9,0 µg/ml gut abgelesen werden. Alle zu untersuchenden Seren- bzw. Urinproben wurden mit den angegebenen Lösungen in diese Bereiche hinunterverdünnt.
Die Proben wurden ca. 16 Stunden bei 37° C bebrütet. Die Auswertung der Meßergebnisse erfolgte gegen die Standardwerte im halblogarithmischen System.

3. Pharmakokinetische Auswertung

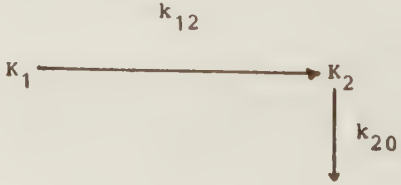
3.1. Darstellung des Kompartimentmodell

Aufgabe der Pharmakokinetik ist die mathematische Beschreibung des Weges eines Pharmakons im Organismus. Das pharmakokinetische Grundmodell sei kurz dargestellt:



Zunächst befindet sich das Pharmakon in einem durch die Applikationsart bedingten Eingangskompartiment K_1 (z. B. bei intramuskulärer Injektion im Interstitium der Muskulatur). Von dort gelangt es weiter in das Kompartiment Blut K_2, das mit K_2 bezeichnet wurde; von hier tritt es einerseits vorübergehend in ein je nach Substanz verschieden großes extravasales Kompartiment K_3 über - weshalb K_3 auch als Nebenkompartiment bezeichnet wird - andererseits findet eine irreversible Elimination in ein nicht betrachtetes Ausgangskompartiment K_0 statt. Die Koeffizienten k_{ij} bezeichnen die Geschwindigkeitskonstanten des Übertritts vom Kompartiment K_i in das Kompartiment K_j.

Für praktische Belange genügt es allerdings die beiden Kompartimente K_2 und K_3 zu einem einzigen Kompartiment zusammenzufassen, da sich zwischen K_2 und K_3 meist aufgrund $k_{23} \gg k_{20}$ ein Gleichgewicht einstellt.
Wir erhalten somit ein vereinfachtes pharmakokinetisches Grundmodell:



K_2 stellt ein Kompartiment dar, dessen Volumen größer ist als der Intravasalraum, der sich aber pharmakokinetisch wie das Blut selbst verhält. Es genügt somit die Konzentrations - Zeit - Kurve des applizierten Pharmakons im Blut zu untersuchen. Diese ist von der Art des Pharmakons und der Art der Applikation abhängig.
Die Konzentrations - Zeit - Kurve im Blut ist im allgemeinen Resultant zweier entgegengesetzter Bewegungen des Pharmakons, nämlich der Absorbtion und der Elimination. Nur bei der intravenösen Injektion kann der Vorgang der Absorbtion ausgeklammert werden. Ferner setzen wir voraus, daß die Geschwindigkeit der Elimination stets der zu eliminierenden Menge des Pharmakons proportional ist.
Wir erhalten somit zwei Differentialgleichungen:

$$(1)\quad \frac{dM}{dt} = -k_{12} \cdot M \text{ mit Anfangsbedingung } M_0 = D_{abs}$$

$$(2)\quad \frac{dB}{dt} = +k_{12} \cdot M - k_{20} \cdot B \text{ mit Anfangsbedingung } B_0 = 0$$

wobei M = Menge des Pharmakons im Eingangskompartiment
B = Menge des Pharmakons im Blut
D_{abs} = Dosis des Pharmakons, das vom Blut absorbiert wird

Die Auflösung dieses Systems von Differentialgleichungen ergibt die sogenannte " Bateman - Funktion ". Sie wurde 1910 von Bateman entwickelt und stellt in der Physik die mathematische Beschreibung der Menge einer radioaktiven Tochtersubstanz als Funktion der Zeit dar - ein, mathematisch gesehen, analoger Vorgang zu unserem pharmakokinetischen Modell.

$$(3)\quad B(t) = D_{abs} \cdot \frac{K_{12}}{K_{12} - K_{20}} \left(e^{-k_{20} \cdot t} - e^{k_{12} \cdot t} \right)$$

Teilen wir diese Gleichung durch das Verteilungsvolumen V, so erhalten wir die gewünschte Konzentrations - Zeit - Funktion im Blut:

$$(4)\quad C_p(t) = C_0 \cdot \frac{K_{12}}{K_{12} - K_{20}} \left(e^{-k_{20} \cdot t} - e^{-k_{12} \cdot t} \right)$$

wobei $C_p(t) = \frac{B \cdot (t)}{V}$ die Konzentration zum Zeitpunkt t

$C_0 = \frac{D_{abs}}{V}$ die fiktive Konzentration zum Zeitpunkt 0 angibt.

k_{12} bezeichnet hier die Absorbtionskonstante k_a ,

k_{20} die Eliminationskonstante k_{el}.

Die Konzentrations - Zeit - Kurve sei im folgenden zur Veranschaulichung kurz graphisch dargestellt:

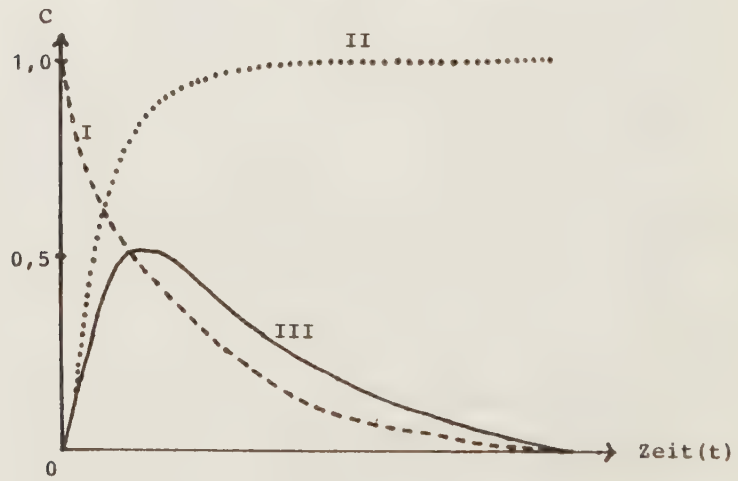


Abb. 1 : Konzentrations - Zeit - Kurve

Kurve I - einfache Eliminationsfunktion $C_p(t) = C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t}$ nach intravenöser Gabe

Kurve II - Absorbtioskurve $C_p(t) = C_0 \cdot (1-e^{-k_a \cdot t})$;

-"sie kann isoliert nicht unmittelbar nicht gewonnen werden." (5)

Kurve III - Batemanfunktion

$$C_p(t) = C_0 \cdot \frac{K_a}{K_a - K_{el}} \left(e^{-k_{el} \cdot t} - e^{-k_a \cdot t} \right);$$

Für die in Abb. 1 gezeigte graphische Darstellung wurde $k_a : k_{el} = 1 : 2$ angenommen.

Eine übersichtlichere Darstellung dieser Funktionen erhält man in einem halblogarithmischen Koordinatensystem, da die monoexponentiellen Kurven I und II als Geraden dargestellt werden.

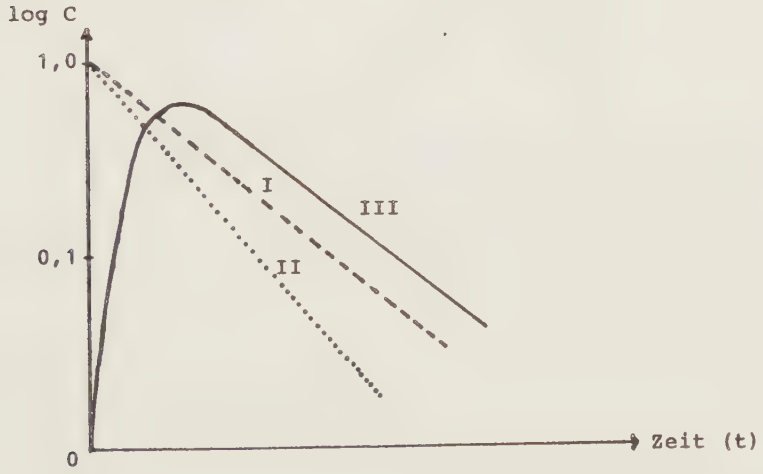


Abb. 2 : Halblogarithmische Darstellung der Konzentrations - Zeit - Kurve
Kurve I - reine Eliminationskurve
Kurve II - umgekehrte Darstellung der Invasionskurve
Kurve III - Kurvenverlauf bei gleichzeitig stattfindender Invasion und Elimination

Aus dieser halblogarithmischen Darstellung können die pharmakokinetischen Parameter k_{el} und k_a leicht als Steigungen der Kurven I und II entnommen werden.

Weitere, wichtige Gesetzmäßigkeiten können in der folgenden Abbildung zur Anschauung gebracht werden:

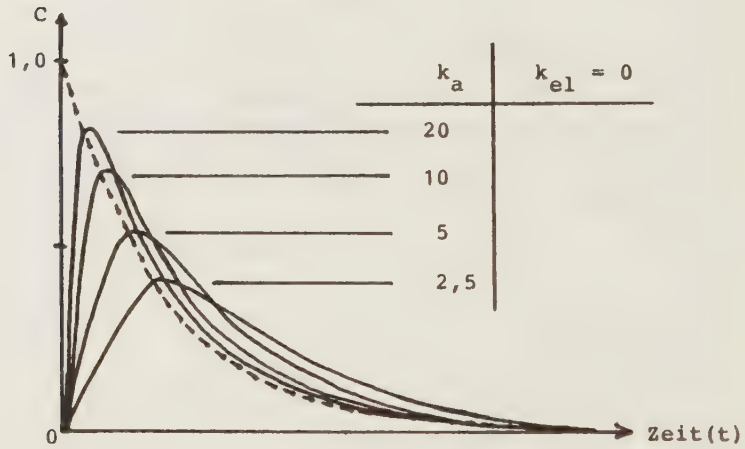


Abb. 3 : Verlauf der Konzentrations - Zeit - Kurve bei unterschiedlichem k_a und konstantem k_{el}

Die Kurvenmaxima der Kurven III liegen alle auf der Kurve I, der Eliminationskurve, die nach intravenöser Injektion der gleichen Dosis bestimmt werden kann. Dies kann man auch rechnerisch überprüfen. Ferner ist offensichtlich, daß die Höhe des Maximums der Kurve III nur dann ein Maß für die Vollständigkeit der Invasion sein kann, wenn davon ausgegangen werden kann, daß die Invasionskonstanten in verschiedenen, zum Vergleich durchgeführten Versuchen diesselbe ist.

Ansonsten ist man auf das Prinzip der korrespondierenden Flächen von Dost (3) verwiesen:

Die Fläche A_{abs} unter der Blutspiegelkurve ist der absorbierten Dosis D_{abs} proportional unabhängig von der Invasionskonstanten k_a.

$$\text{Denn } A_{abs} = \int_0^{\infty} C_0 \cdot \left(\frac{k_a}{k_a - k_{el}} \right) \cdot \left(e^{-k_{el} \cdot t} - e^{-k_a \cdot t} \right) dt =$$

$$= C_0 \cdot \frac{k_a}{k_a - k_{el}} \cdot \lim_{T \to \infty} \left[\frac{1}{k_{el}} \cdot e^{-k_{el} \cdot t} + \frac{1}{k_a} \cdot e^{-k_a \cdot t} \right]_0^T$$

$$= C_0 \cdot \frac{k_a}{k_a - k_{el}} \cdot \left(\frac{1}{k_{el}} - \frac{1}{k_a} \right) =$$

$$= \frac{C_0}{k_{el}} = \frac{D_{abs}}{k_{el} \; V}$$

$$A_{abs} = \frac{D_{abs}}{Cl_{tot}} \quad , \text{ wobei } Cl_{tot} = k_{el} \cdot V;$$

Cl_{tot} wird die " totale Clearance " genannt.

Die Fläche A_{abs} ist somit der absorbierten Dosis D_{abs} proportional. Da bei intravenöser Injektion $D_{abs} = D_{app}$ gilt; wobei mit D_{app} die applizierte Dosis bezeichnet wird, kann aus dem Vergleich der Flächen A_{abs} mit der Fläche A_{app} unter der reinen Eliminationskurve I die absorbierte Dosis berechnet werden.
Wurde bei der intravenösen Injektion die Dosis D_{iv} appliziert (wir erhalten entsprechend die Fläche A_{iv}) können wir D_{app} wie folgt berechnen:

$$\frac{D_{abs}}{D_{iv}} = \frac{A_{abs}}{A_{app}} \quad , \text{ da } D_{abs} \sim A_{abs} \text{ und } D_{iv} \sim A_{app};$$

hieraus folgt:

$$\underbrace{\left(\frac{D_{app}}{D_{app}} \right)}_{1} \cdot \frac{D_{abs}}{D_{iv}} = \frac{A_{abs}}{A_{iv}}$$

ergibt: $$\frac{D_{abs}}{D_{app}} = \frac{A_{abs}}{A_{iv}} \cdot \frac{D_{iv}}{D_{app}}$$

Mit dieser Formel kann der Grad der Absorbtion bestimmt werden.

3.2. Manuelle Methode zur Bestimmung der Pharmakokinetischen Parameter

Die pharmakokinetischen Daten für die Invasionskonstante k_a und die Eliminationskonstante k_{el} können aus der graphischen Darstellung der Meßpunkte auf ein halblogarithmisches Koordinatennetz ermittelt werden.

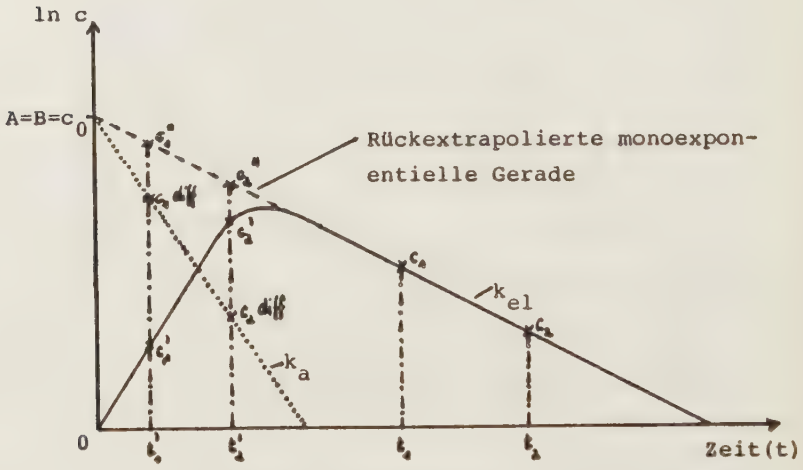


Abb. 4 : Bestimmung der Invasionskonstante und der Eliminationskonstante mit dem offenen Einkompartimentmodell nach extravaskulärer Verabreichung einer Substanz unter Zuhilfenahme der jeweiligen Serumkonzentration

c_0 = fiktive Anfangskonzentration zur Zeit t = 0, die sich aus der Verlängerung der Gerade bis zum Schnittpunkt mit der Ordinate ergibt

$$c_0 = B = A(\mu g/ml)$$

k_{el} = Eliminationkonstante

$$k_{el} = \frac{\ln c_1 - \ln c_2}{t_2 - t_1} \quad (hr^{-1})$$

k_a = Invasionskonstante

$$k_a = \frac{\ln c_{1\,diff} - \ln c_{2\,diff}}{t'_2 - t'_1} \quad (hr^{-1})$$

c_1, c_2 = Substratkonzentration zum Zeitpunkt t_1 und t_2 in der Eliminationsphase

c'_1, c'_2 = tatsächliche Substratkonzentration zum Zeitpunkt t'_1 und t'_2 in der Absorbtionsphase

c''_1, c''_2 = fiktive graphisch gewonnene Substratkonzentration zum Zeitpunkt t'_1 und t'_2 auf der rückextrapolierten Gerade

$c_{1\,diff}$ = Differenz zwischen tatsächlicher Plasmakonzentration c'_1 in der Absorbtionsphase und der fiktiven Konzentration c''_1 zum selben Zeitpunkt t'_1

$c_{2\,diff}$ = Differenz zwischen tatsächlicher Plasmakonzentration c'_2 in der Absorbtionsphase und der fiktiven Konzentration c''_2 zum selben Zeitpunkt t'_2

Für die Ermittlung der Serumeliminationshalbwertzeit $t_{1/2}$ gilt:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_{el}}$$

Das Verteilungsvolumen V ergibt sich aus:

$$V = \frac{D}{c_0}$$

Für die Fläche unter der Serumeliminationskurve gelangte folgende Formel zur Anwendung:

$$AUC = \frac{D \cdot f}{V} \cdot \frac{k_a}{k_a - k_{el}} \cdot \left(\frac{1}{k_{el}} - \frac{1}{k_a} \right)$$

Zur Bestimmung der maximalen Eliminationsleistung wurde zunächst die initiale Eliminationsgeschwindigkeit ermittelt:

$$V_0 = c_0 \cdot k_{el}$$

Für die graphische Bestimmung der Parameter der Sättigungskinetik wurde die Michaelis - Menten - Gleichung nach Lineweaver - Burk umgeformt, indem die Reziprokwerte der Eliminationsgeschwindigkeit $1/V_0$ gegen die Reziprokwerte der fiktiven Anfangskonzentration $1/c_0$ aufgetragen wurden. Daraus resultiert eine Gerade, die die Ordinate bei $1/t_{max}$ schneidet, und die Abszisse bei $1/y_{max}$. Diese Größen können dann direkt aus der Kurve entnommen werden.

3.3. Computerauswertung

Zur Berechnung herangezogen wurden der arithmetische Mittelwert ($\bar{x}$) und die Standardabweichung (s_x) der Einzeldaten, d.h. der Serumkonzentrationen zu den verschiedenen Entnahmezeiten (t_x), sowie der Harnkonzentrationen zu den verschiedenen Sammelperioden.
Angesichts der vergleichsweise geringen Anzahl von Meßpunkten und der bei oraler Applikation üblichen erheblichen Streuungen der Einzelpunkte war nur die Annahme eines Einkompartimentmodells möglich.
Unter Verwendung des Einkompartimentmodells wurde mit Hilfe eines nichtlinearen Regressionsprogramms für jeden Probanden eine Regressionsanalyse durchgeführt. Aus den errechneten Parametern wurden die pharmakokinetischen Parameter des offenen Einkompartimentmodells herausgearbeitet.
Für die Mittelwertbildung wurde die applizierte Dosis jeweils auf gleiches Körpergewicht (Dosis/70 kg) umgerechnet. Die Regressionsanalyse sowie die Berechnung des Einkompartimentmodelles wurden von Prof. Dr. ing. P. Koeppe in Berlin durchgeführt.
Aus der Summe der Konzentrationen der in den einzelnen Harnsammelperioden ausgeschiedenen antibakteriell wirksamen Substanzen errechnete sich die kumulative Ausscheidung in der Sammelperiode 0 - 6 Stunden.
Als statistisches Prüfverfahren diente der t - Test für verbundene Stichproben. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit

der statistischen Signifikanz wurde 2 p (= 5%) angenommen.

4. Ergebnisse

4.1. Serumspiegelbestimmungen und Harnausscheidung von Amoxicillin nach oraler Gabe von Amoxicillin 500 mg und der Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure 625 mg (Augmentan^{R})

Die Amoxicillin - Serumkonzentrationen nach alleiniger Applikation von 500 mg Amoxicillin sind als Einzelwerte in Tab. 1, als arithmetisches Mittel graphisch in Abb. 5 dargestellt. Die Serumkonzentrationen von Amoxicillin nach Gabe der Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure (Augmentan^{R}) sind in Tab. 2 sowie Abb. 5 zusammengestellt.
In beiden Fällen ist die mittlere Maximalkonzentration von Amoxicillin alleine mit 8,2 ± 0,9 mg/l bzw. 8,0 ± 1,2 mg/l in der Kombination 79,5 bzw. 79,2 Minuten nach der Applikation erreicht.
Bei Amoxicillin erfolgte ein Abfall der Serumkonzentrationen nach 360 Minuten im Mittel auf 0,50 ± 0,2 mg/l, bei der Kombination im Mittel auf 0,51 ± 0,38 mg/l. Die Werte lagen zu diesem Zeitpunkt noch oberhalb der Nachweisgrenze von 0,25 mg/l.
Die Halbwertszeit $t_{1/2}$ betrug im Mittel 52,7 ± 3,1 Minuten bei Amoxicillin alleine und 56,4 ± 3,3 Minuten in der Kombination.
Die Fläche unter den Serumkonzentrationen als Ausmaß der Resorption (AUC) betrug für Amoxicillin alleine im Mittel 19,4 ± 1,3 (mg · h/l), für Amoxicillin in der Kombination 20,4 ± 2,5 (mg · h/l).
In Tab. 4 sind die im Serum gewonnenen pharmakokinetischen Parameter für Amoxicillin nach alleiniger Gabe und in Kombination mit Clavulansäure zusammengefaßt.

Die Harnausscheidung betrug in der 6 - Stunden - Sammelperiode für Amoxicillin 68% der verabreichten Dosis und für Amoxicillin in der Kombination 75%.

Die Einzelwerte der verschiedenen Sammelperioden sind für Amoxicillin alleine und in Kombination der Tab. 3 zu entnehmen. Die vergleichende graphische Darstellung der im Urin ausgeschiedenen Mengen zu den jeweiligen Sammelperioden ist in Abb. 6 wiedergegeben.
Tab. 5 zeigt eine zusammengefaßte Darstellung der Harnrecovery von Amoxicillin nach alleiniger Gabe und nach Verabreichung in der Kombination mit Clavulansäure 625 mg (Augmentan^{R}).

4.2. Serumspiegelbestimmungen und Harnausscheidung von Clavulansäure nach oraler Applikation von Clavulansäure 125 mg sowie der Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure 625 mg (Augmentan^{R})

Die Clavulansäure - Serumkonzentrationen nach Gabe von 125 mg sind als Einzelwerte in Tab. 6, als arithmetisches Mittel in Abb. 7 graphisch dargestellt. Die Serumeinzelwerte für Clavulansäure alleine und nach kombinierter Gabe von Clavulansäure mit Amoxicillin (Augmentan^{R}) finden sich in Tab. 7 sowie Abb. 7.
Die mittlere Maximalkonzentration der Clavulansäure liegt bei 3,52 ± 0,29 mg/l nach isolierter Gabe bzw. 3,89 ± 0,51 mg/l nach Gabe der Kombination und ist 53,7 ± 6,1 Minuten bzw. 75,1 ± 5,5 Minuten nach der Gabe erreicht.
Die Serumkonzentrationen waren bei Clavulansäure nach 240 Minuten im Mittel auf 0,37 ± 0,29 mg/l und in der Kombination auf 0,58 ± 0,35 mg/l abgefallen.
Der 360 - Minuten - Wert lag in beiden Fällen unterhalb der Nachweisgrenze der von uns angewandten Methode und war daher nicht mehr zu ermitteln.
Die Halbwertszeit $t_{1/2}$ betrug im Mittel 46,9 ± 3,0 Minuten für Clavulansäure alleine und 45,4 ± 3,2 Minuten für Clavulansäure in der Kombination.
Die Fläche unter den Serumkonzentrationskurven als Ausmaß der Resorption (AUC) betrug für Clavulansäure im Mittel 6,1 ± 0,6 (mg · h/l), für Clavulansäure in der Kombination 8,0 ± 1,0 (mg · h/l).

Einen Überblick aller im Serum gewonnenen pharmakokinetischen Parameter für Clavulansäure nach alleiniger Gabe und in Kombination mit Amoxicillin gibt die Tab. 4.

Die Harnausscheidung betrug in der 6 - Stunden - Sammelperiode für Clavulansäure 37% der applizierten Dosis, für Clavulansäure in der Kombination 57%. Die Einzelwerte der verschiedenen Sammelperioden sind aus der Tab. 8 zu entnehmen.
Die vergleichende graphische Darstellung der Harnrecovery der Clavulansäure in den jeweiligen Sammelperioden ist in der Abb. 8 wiedergegeben.

5. Diskussion

Amoxicillin ist ein halbsynthetisches, nicht Penicillinase - stabiles Breitspektrum - Penicillin, das durch Penicillinase - produzierende Keime inaktiviert werden kann. Die hieraus folgende Einschränkung der medikamentösen Therapie macht die Erforschung von Wegen notwendig, um die Herabsetzung der therapeutischen Wirksamkeit zu verhindern.

Eine Möglichkeit ist die Entwicklung von Antibiotika, die durch ß-Lactamasen nicht hydrolysiert werden können. Eine weitere Möglichkeit wäre die Ausnutzung der Hydrolyse durch ß-Lactamasen, indem Antibiotika entwickelt werden, die gerade durch den Kontakt mit dem Enzym in ihre wirksame Form überführt werden.
Unsere Arbeit bezieht sich auf einen dritten Weg, die Entwicklung von Pharmaka, die die ß-Lactamasen selbst inaktivieren.
Untersuchungen zu dieser letzteren Fragestellung mit Kombinationen von Breitband - Penicillinen und Isoxazol - Penicillinen zeigten nicht den gewünschten Erfolg. Zum einen werden sehr hohe Konzentrationen des Isoxazol - Penicillins zur Hemmung der ß-Lactamase - Aktivität benötigt (18), zum anderen ist dieser Hemmeffekt auf eine geringe Anzahl der verschiedenen ß-Lactamasen begrenzt und zudem kompetitiver, meist reversibler Natur (16).

Clavulansäure ist ein aus der Enzymproduktion von Streptomyces clavuligerus (ATCC 27064) gewonnener, gut wirksamer Hemmstoff zahlreicher bakterieller ß-Lactamase - Enzyme. Bei einer Untersuchung des antibakteriellen Synergismus von ß-Lactam - Antibiotika (Amoxicillin, Carbenicillin, Cephaloridin) fanden Reeves, Bywater und Holt (18), daß " ... Konzentrationen von nicht mehr als 1 mg/l Clavulansäure ... Ampicillin - resistente Stämme von Bacteroides fragilis, Haemophilus influenzae und Staphylococcus aureus empfindlich gegen übliche Blutkonzentrationen von Amoxicillin (machten). 5 mg/l Clavulansäure brachten die Mehrzahl von Stämmen von Proteus mi-

rabilis, alle Stämme von Proteus vulgaris, die meisten Stämme von Klebsiella pneumoniae und einen kleinen Anteil Ampicillin - resistenter Stämme von Escherichia coli in den therapeutischen Bereich des Amoxicillins. Steigerung der Konzentration auf 10 mg/l machte die meisten Colistämme Amoxicillin - empfindlich."
Reading und Cole (16) gelangten zu ähnlichen Ergebnissen. Sie fanden schon in niedrigen Konzentrationen von 1 - 10 mg/l eine durch Clavulansäure bewirkte Hemmung der ß-Lactamase zahlreicher Bakterien, wie z. B. Klebsiella aerogenes und Proteus mirabilis, der R - Plasmid - vermittelten Penicillinasen von E. coli JT 4 und JT 39, desweiteren der sog. Cephalosporinasen von Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter cloacae und der chromosomal vermittelten ß-Lactamase von E. coli JT 410.

Einen Überblick über die verschiedenen ß-Lactamase - bzw. Cephalosporinase - Typen, ihre bakteriellen Produzenten und den Hemmeffekt von Clavulansäure liefert die nachfolgende Tabelle (entnommen aus Reading, Cole (16), ergänzt durch Richmond und Sykes (19):

ß-Lactamasen - bildende Bakterienstämme	Substrat	I_{50}	Klassifikation bzw. Typisierung der ß-Lactamasen (1)	(2)
Pseudomonas aeruginosa A (Sabath type)	C	80	I	Ab
Escherichia coli JT 410	C	56	I	Ab
Enterobacter cloacae P 99	C	10	I	Ab
Klebs. aer. NCTC 418	P	0.03	II	Ac
E. coli JT 4	P	0.08	III	Ba
Proteus mir. C 889	P	0.03	IV	Aa
Pseud. aer. Dalgleish (Suspension enthält einige Sabath-Enzyme)	P	0.10	V	Aa Ab
Staph. aureus (Russell)	P	0.06	nicht - klassifizierte Enzyme	

Tab. 9: ß-Lactamase - bildende Bakterienstämme und ihre Empfindlichkeit gegenüber Clavulansäure

Index: C = Cephalosporin, P = Penicillin, I_{50} = mittlere inhibitorische Konzentration von Clavulansäure

(1) = ß-Lact. - Typisierung nach Richmond und Sykes (19):

Klassifikation	Aktivität Penicillin	Aktivität Cephalosporin	Stämme	Clavulansäurehemmung
I	-	++	viele gramneg.	-
II	++	-	Pr. mirabilis	+
III	+++	+	R-TEM Plasmid	+
IV	+	+	Klebs./B.fragilis	+
V	+++	+	versch. gramneg. Isoxazolyl Plasmide	+

(2) = ß-Lact. - Typisierung nach Sykes und Matthew(23):

A. Chromosomal vermittelt	Bakterienstämme
a. Penicillinasen	Pr. mirabilis
b. Cephalosporinasen	die meisten gramneg. Klebsiella
c. Breitspektrum	
B. R-Plasmid vermittelt	Bakterienstämme
a. TEM	viele gramneg.
b. OXA	einige gramneg.

Untersuchungen von Spratt, Jobanputra und Zimmermann (22) beziehen sich auf eine mögliche Voraussetzung der inhibitorischen Wirkungsentfaltung von Clavulansäure.

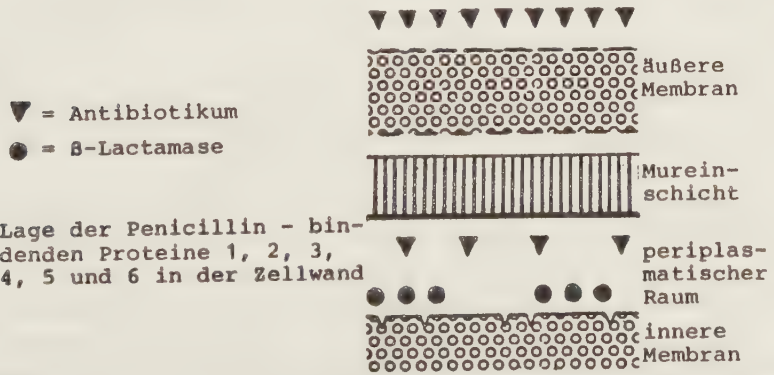
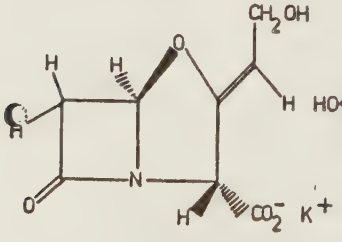


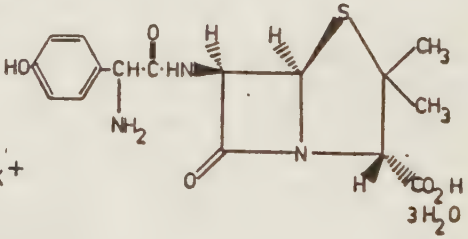
Abb. 9: Hypothetischer Querschnitt durch die Zellwand eines gramnegativen Bakteriums zur Darstellung der relativen Lage von ß-Lactam - Antibiotika und ß-Lactamase-Enzymen

Die Autoren fanden unter Verwendung des Stammes E. coli K-12 eine deutliche Affinität von Clavulansäure zum Penicillin - bindenden Protein (PBP) 2 und geringere Affinitäten zu den PBP 1, 3, 4, 5 und 6. Dabei werden diese sog. PBP als Proteine der E. coli - Zellmembran postuliert, die die durch Penicilline angegriffene Enzymwirkung bestimmter Endschritte der Peptidoglycansynthese ausüben.

Wurde hier das morphologische Substrat der Hemmwirkung der Clavulansäure auf ß-Lactamasen thematisiert, nannten Reading und Cole (16) als chemisch - strukturelles Äquivalent dieses Effekts die Ähnlichkeit des Grundgerüstes von Penicillin und Clavulansäure. Ihnen zufolge könnte die Affinität der Clavulansäure zu ß-Lactamasen aus dem den beiden Substanzen gemeinsamen ß-Lactam - Ring erklärt werden; für die Reaktivität der Clavulansäure könnte die in Position 3 des Rings befindliche OH - Ethyliden - Gruppe verantwortlich sein.



Clavulansäure



Amoxicillin - Trihydrat

Genäuere Untersuchungen zur Reaktionskinetik der Inhibitionsreaktion finden sich bei Fischer, Charnes und Knowles (4). Die Autoren kamen zu folgenden Ergebnissen: Der erste Schritt der Reaktion zwischen Clavulansäure und ß-Lactamasen (verwendet wurde E. coli - ß-Lactamase RTEM) besteht in der Bildung eines reagiblen Michaelis - Komplexes. Von hier aus werden kompetitiv drei weitere Reaktionswege mit unterschiedlichen Geschwindigkeitskonstanten beschritten:

a. Hydrolyse der Clavulansäure durch das Enzym,
b. Bildung eines inaktiven, aber labilen Enzym - Clavulansäure - Komplexes,
c. Bildung eines irreversibel inaktiven Komplexes.
Dabei verläuft die Reaktion in Richtung des instabilen Komplexes dreimal schneller als die in Richtung des stabilen Komplexes (vermutluch von der Art einer kovalenten Bindung). Die Zerfallsgeschwindigkeit des inaktiven instabilen Komplexes, dessen Zerfall ß-Lactamase - Freisetzung in aktiver Form bewirkt, ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt im Hinblick auf den vollständigen, irreversiblen Inaktivierungsprozeß des ß-Lactam - Angebots. Letzteres Resultat interpretieren die Autoren so als Summe zweier Reaktionsprozesse erster Ordnung. Sie fanden, daß eine Überschußkonzentration von Clavulansäure im Molekularverhältnis von 115 : 1 (sog. 'turnover') ausreicht, um das gesamte angebotene Enzym vollständig irreversibel zu inaktivieren.

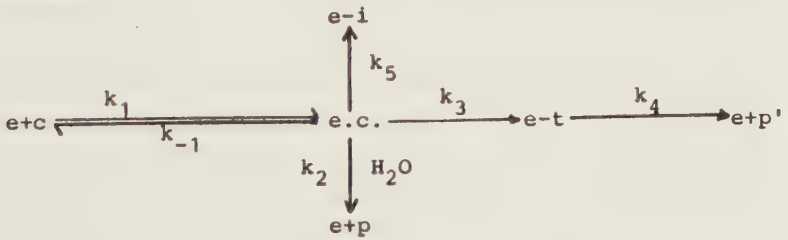


Abb. 10· Hypothetische Reaktionskinetik der Interaktion von Clavulansäure und ß-Lactamase
e = freies Enzym
c = Clavulansäure
e.c. = Michaelis - Komplex aus freiem Enzym und Clavulansäure
p = Reaktionsprodukt nach Hydrolyse der Clavulansäure
p' = Reaktionsprodukt nach dem Zerfall des labilen, inaktiven Enzym - Clavulansäure - Komplexes e-t
e-i = irreversibel inaktivierter Komplex

Eine Anschlußuntersuchung von Charnas, Fisher und Knowles (4) fundierte die obigen Thesen durch Messung des Absorptionsverhaltens des ß-Lactamrings der Clavulansäure im Infrarotspektrum bei 1780 cm^{-1}. Der Unterschied im Absorptionsverhalten vor bzw. nach Inkubation von Clavulansäure mit ß-Lactamase legt nahe, daß Clavulansäure ein Substrat der ß-Lactamase im Sinne einer Hydrolyse des ß-Lactam - Rings ist. In ähnlicher Weise ergab sich in der Analyse des Absorptionsverhaltens im UV - Spektrum bei 281 nm ein Beleg für die Bildung und den Zerfall des instabilen Komplexes. Die Untersuchung konnte darüberhinaus die Resultate von Fisher et al. insofern spezifizieren, als ihre Messungen auf die Existenz von drei verschiedenen Varianten des irreversiblen inaktivierten Komplexes, von denen eine durch Behandlung mit Hydroxylamin wieder in aktives, freies Enzym überführbar ist, hinweisen. Aus dem Absorptionsverhalten der beiden Komplexe schließen die Autoren auf mögliche zugrundeliegende chemische Strukturen und geben Acylierungs- bzw. Alkylierungsprozesse als mögliche, aber noch weiter zu bestätigende Reaktionsmodi an.

In unserer Studie diente die schon genannte Eigenschaft der Clavulansäure, ß-Lactamasen zu hemmen, als Grundlage der mikrobiologischen Aktivitätsbestimmung mit der Agar - Diffusionsmethode, die die Messung der ß-Lactamase - Aktivität des ß-Lactamase - bildenden Klebsiella pneumoniae - Stammes unter Hinzugabe einer subinhibitorischen Konzentration von Benzyl - Penicillin (60 µg/ml) erlaubte. In den angesetzten Konzentrationen hat Clavulansäure selbst keinen Hemmeffekt auf das Wachstum der Klebsiellen. Es hemmt jedoch die ß-Lactamase - Aktivität der Klebsiellen, womit die Inaktivierung des im Agar befindlichen Penicillins verhindert wird. Somit entstehen in der Folge durch nicht inaktiviertes Penicillin Hemmhöfe, deren Durchmesser proportional zur Clavulansäurekonzentration im Versuchsansatz ist.

Die Kombination des Antibiotikums Amoxicillin mit Clavu-

lansäure erweitert die Therapiemöglichkeiten bei Infektionen mit ß-Lactamase - produzierenden Keimen.
Bisherige Arbeiten befassen sich größtenteils mit der Frage des Kombinationsverhältnisses beider Substanzen. So kommen Reeves et al. (18) zu dem Ergebnis, daß schon eine Konzentration von 1 µg/ml Clavulansäure in Kombination mit Amoxicillin eine wirksame Inhibition ß-Lactamase - produzierender Enzyme verspricht, während Hunter et al. (6) 2,5 µg/ml, Nelson et al. (12) 3,3 µg/ml als die niedrigste Konzentration mit ausreichender Wirkung vorschlagen.

Über das pharmakokinetische Verhalten von Amoxicillin und Clavulansäure bei einem Mischungsverhältnis von 4 : 1 liegen nur begrenzte Informationen vor.
Aus diesem Grund wurde in der hier vorgelegten Arbeit eine mögliche wechselseitige Beeinflussung dieser Substanzen untersucht. Im besonderen wurden die pharmakokinetischen Parameter beider Komponenten, wenn sie einzeln verabreicht wurden, mit denjenigen der Gabe als Kombination verglichen.
Die gegenseitige Beeinflussung der Substanzen in der Kombination im 6 - Stunden - Sammelurin wurde nach dem Wilcoxon - Paarvergleich - Rangtest bestimmt, und zwar hinsichtlich der kumulativen Ausscheidungs - Werte im Urin jeder Versuchsperson.

Während in Gegenwart von Amoxicillin die Ausscheidung von Clavulansäure auf dem 95% - Signifikanzniveau erhöht wurde (p 0,05), konnte eine solche Differenz in der Recovery von Amoxicillin, sowohl nach alleiniger Gabe von Amoxicillin als auch nach Einnahme in der Kombination mit Clavulansäure, nicht nachgewiesen werden. Die niedrigere prozentuale 0 - 6 Stunden - Recovery von Clavulansäure im Vergleich zu der von Amoxicillin könnte zum Teil auf der etwas geringeren Stabilität der erstgenannten Substanz unter physiologischen Bedingungen beruhen.
Die statistische Berechnung der Serumkonzentrationen und der pharmakokinetischen Parameter nach Gabe der Einzelsubstanzen bzw. der Kombinationen mittels des t - Testes

für verbundene Stichproben ergab auf dem 95% - Signifikanzniveau keine Unterschiede hinsichtlich der Parameter, die unter Punkt 4 erwähnt wurden (außer f'; siehe Tab. 2). Das wurde auch von Mizen et al. (11) gefunden, der Labortiere untersuchte - obwohl die Parameter sich von denjenigen des Menschen unterscheiden. Abgesehen von der Absorptionsrate scheinen also keine Unterschiede zwischen den pharmakokinetischen Daten, die aus Serumspiegelbestimmungen von Amoxicillin oder Clavulansäure am Menschen, sowohl nach Einzelsubstanzverabreichung wie nach Gabe in der Kombination, gewonnen wurden, zu bestehen. Die Parameter für Amoxicillin alleine stimmen weitgehend mit denen überein, die schon früher gefunden wurden (2). Die Autoren einer anderen Studie (Höffken et al., unveröffentlicht), die ein ähnliches Problem untersuchten, kommen im wesentlichen zu denselben Schlüssen.

Die Absorptionsraten f' für Clavulansäure allein bzw. zusammen mit Amoxicillin unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$) voneinander. Das bedeutet eine verbesserte Absorption von Clavulansäure in Gegenwart von Amoxicillin. Abb. 7 zeigt die nach einer anfänglichen Verteilungsphase höheren Serumspiegel von Clavulansäure, die sich aus diesem Unterschied ergeben. Die verbesserte Absorption von Clavulansäure in Gegenwart von Amoxicillin könnte auf einem ähnlichen Effekt beruhen, der von Adam et al. (1) in einer pharmakokinetischen Untersuchung mit Breitspektrum - Penicillinen / Oxacillin - Kombinationen gefunden wurde. Hier resultierte bei gleichzeitiger Gabe zweier Penicillin - Derivate ein gegenüber Einzelapplikation um ca. 35% höherer Serumspiegel der Penicilline; ein Ergebnis, das mit einem Kompetitionsmechanismus beider Substanzen am tubulären renalen Exkretionsort im Sinne eines Probenecid - Effekts erklärt werden kann. Eines der beiden Penicillin - Derivate besitzt nach dieser Vorstellung eine höhere renale Clearance und sättigt so die tubuläre Exkretionskapazität; Resultat ist eine somit abnehmende Exkretion des zweiten Derivats niedrigerer renaler Clear-

ance bzw. eine Erhöhung des Serumspiegels. Das gemeinsame chemische Grundgerüst von Clavulansäure und Penicillin läßt einen ähnlichen Mechanismus als erwägenswert erscheinen.
Die leicht erhöhte Urinausscheidung von Clavulansäure in den Versuchsabschnitten, in denen die Versuchspersonen die Kombination erhielten, könnte auch Folge dieser unterschiedlichen Absorptionsraten sein.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Serum- und Urinkonzentrationen sowie das pharmakokinetische Verhalten von Amoxicillin und dem Hemmstoff der ß-Lactamase-Enzyme Clavulansäure nach alleiniger und kombinierter Verabreichung untersucht. Es wurden hierbei 500 mg Amoxicillin und 125 mg Clavulansäure sowohl alleine als auch in kombinierter Gabe appliziert. Das besondere Interesse galt dem Resorptions- und Ausscheidungsverhalten der Substanzen nach Einzelapplikation im Vergleich zur gleichzeitigen Applikation in Form von Augmentan^{R}. Nur die im Vergleich zur Einzelgabe unveränderte Wirksamkeit der Kombination erweitert die Therapiemöglichkeiten bei Infektionen mit ß-Lactamase-produzierenden Keimen.
Mittels der Agar-Diffusionsmethode wurden die Serum- und Urinkonzentrationen von Amoxicillin und Clavulansäure bei 12 freiwilligen Probanden bestimmt.
Bei Amoxicillin betrugen die mittleren maximalen Serumkonzentrationen 8,2 mg/l nach alleiniger Gabe bzw. 8,0 mg/l nach Gabe der Kombination. Diese mittleren Maximalkonzentrationen wurden 79,5 bzw. 79,2 Minuten nach der Applikation erreicht. Aufgrund der gefundenen Werte von Amoxicillin nach Einzelapplikation und in Kombination mit Clavulansäure wurde bei dem hier vorausgesetzten Mischungsverhältnis von 4:1 keine Änderung des pharmakokinetischen Verhaltens von Amoxicillin festgestellt.
Für Clavulansäure fanden sich mittlere maximale Serumkonzentrationen von 3,52 mg/l nach alleiniger Gabe bzw. 3,89 mg/l nach Gabe der Kombination. Diese Konzentrationen wurden 53,7 bzw. 75,1 Minuten nach der Applikation der Substanzen erreicht. Hier konnte also eine verbesserte Absorption der Clavulansäure in Gegenwart von Amoxicillin verzeichnet werden. Dies drückt sich auch bei der Fläche der Serumkonzentrationen als Ausmaß der Resorption (AUC) aus. Sie betrug für Clavulansäure nach alleiniger Gabe 6,1 (mg h/l) und nach Applikation der Kombination 8,0 (mg h/l). Es ergibt sich demnach bei einem Mischungsverhältnis der Substanzen

von 4:1, wie es in der dargereichten Form von Augmentan^{R} enthalten ist, eine verbesserte Absorption der Clavulansäure.

Tab. 1: Amoxicillin - Serumkonzentrationen in mg/l
Applizierte Substanz: Amoxicillin 500 mg

VP. - Nr.	Geschl.	KG (kg)	Alter	Serumkonzentrationen nach Minuten							
			(J)	0	20	40	60	90	120	180	240	360
1	m	66	25	0	2.96	7.48	8.14	8.69	9.66	2.81	1.15	0.36
2	m	71	28	0	0.95	4.20	8.40	11.66	10.71	2.11	1.52	fehlt
3	m	82	27	0	1.98	6.10	6.35	5.17	5.99	2.71	1.15	0.60
4	m	75	27	0	1.22	3.25	4.15	3.96	2.52	1.20	0.50	0.28
5	m	60	26	0	0.85	3.55	3.20	4.18	5.15	5.61	2.40	0.39
6	m	60	30	0	7.54	13.11	14.85	9.84	6.09	2.53	1.18	0.32
7	w	69	24	0	0	0.71	1.98	5.01	6.20	6.49	2.63	0.65
8	w	50	23	0	0	2.24	5.35	8.69	11.76	6.71	3.08	0.90
9	w	60	27	0	0	0.28	3.03	9.24	9.98	5.72	2.75	0.57
10	w	63	24	0	0	0.47	2.35	7.70	8.82	6.71	3.80	0.77
11	w	54	23	0	0	1.63	4.30	4.84	4.46	4.02	1.58	0.29
12	w	52	29	0	0.73	7.50	6.99	10.67	7.46	3.63	1.73	0.39
Mittelwert $\bar{x}$			26.1	0	1.35	4.21	5.76	7.47	7.40	4.19	1.96	0.50
Standardabweichung $s_{\bar{x}}$					2.05	3.63	3.44	2.60	2.68	1.89	0.92	0.20

Tab. 2: Amoxicillin - Serumkonzentrationen in mg/l
Applizierte Substanz: Augmentan^{R} 625 mg (= 500 mg Amoxicillin + 125 mg Clavulansäure)

VP. - Nr.	Geschl.	KG (kg)	Alter	Serumkonzentrationen nach Minuten							
			(J)	0	20	40	60	90	120	180	240	360
1	m	66	25	0	0.69	4.50	9.13	13.42	9.87	7.04	2.33	0.46
2	m	71	28	0	2.83	9.05	10.78	10.45	7.77	2.64	1.38	0.39
3	m	82	27	0	0.16	3.75	6.25	7.26	4.73	2.86	1.05	0.28
4	m	75	27	0	1.98	6.25	8.35	8.47	4.73	1.93	0.83	0.32
5	m	60	26	0	0.40	4.50	7.13	7.48	5.78	4.57	1.95	0.50
6	m	60	30	0	1.40	4.95	7.25	9.90	5.99	1.95	0.88	0.19
7	w	69	24	0	0	0.53	1.71	5.50	11.34	6.16	3.95	0.62
8	w	50	23	0	0	0.93	3.89	6.93	8.93	6.38	4.10	1.66
9	w	60	27	0	0.83	10.01	16.17	22.00	16.17	5.39	4.00	0.48
10	w	63	24	0	0.37	1.82	3.55	4.13	4.83	7.92	3.45	0.80
11	w	54	23	0	1.46	2.35	3.95	3.69	4.10	1.71	1.10	0.22
12	w	52	29	0	2.06	2.70	2.70	1.93	1.93	1.49	0.69	0.23
Mittelwert $\bar{x}$			26.1	0	1.03	4.27	6.74	8.43	7.18	4.17	2.14	0.51
Standardabweichung $s_{\bar{x}}$					0.86	2.86	3.89	5.09	3.72	2.23	1.31	0.38

Tab. 3: Amoxicillin - Urinkonzentrationen in mg/l

Applizierte Substanz: (a) = Amoxicillin 500 mg

(b) = Augmentan^{R} 625 mg (= 500 mg Amoxicillin + 125 mg Clavulansäure)

VP. - Nr.	Geschl.	KG (kg)	Alter (J)	Urinkonzentrationen nach Stunden						
				0 (a+b)	0-2 (a)	0-2 (b)	2-4 (a)	2-4 (b)	4-6 (a)	4-6 (b)
1	m	66	25	0	590.58	158.79	261.23	162.66	44.20	23.43
2	m	71	28	0	119.61	203.50	72.65	54.67	9.64	8.04
3	m	82	27	0	112.40	93.76	62.83	128.73	15.88	24.03
4	m	75	27	0	109.59	219.86	59.42	109.83	15.91	17.46
5	m	60	26	0	67.48	109.59	151.23	180.95	27.28	28.21
6	m	60	30	0	273.83	619.18	58.07	209.63	3.99	20.93
7	w	69	24	0	49.82	94.68	158.08	181.47	39.76	56.09
8	w	50	23	0	85.21	291.53	78.19	385.15	16.57	131.38
9	w	60	27	0	80.36	202.01	98.46	139.95	16.07	20.48
10	w	63	24	0	99.58	74.89	261.07	147.11	46.22	41.38
11	w	54	23	0	152.55	79.02	130.46	89.72	29.32	13.25
12	w	52	29	0	346.43	86.03	290.35	64.82	61.20	20.57
Mittelwert $\bar{x}$			26.1	0	173.95	186.07	140.17	154.56	27.17	33.77
Standardabweichung $s_{\bar{x}}$					150.98	146.54	82.54	83.10	16.60	31.86

Tab. 4: Pharmakokinetische Parameter für Amoxicillin und Clavulansäure nach isolierter Gabe (a) bzw. nach Gabe der Kombination (b)
Erläuterungen siehe Punkt 3.1.

		k_a (min^{-1})	k_{el} (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	c_p^o (mg/l)	AUC (mg h/l)	f'	t_{max} (min)	y_{max} (mg/l)
Amoxicillin	(a)	0.0284 ± 0.0059	0.0136 ± 0.0008	52.7 ± 3.1	16.2 ± 1.7	19.4 ± 1.3	0.508 ± 0.052	79.5 ± 6.4	8.2 ± 0.9
	(b)	0.0247 ± 0.0035	0.0127 ± 0.0007	56.4 ± 3.3	15.9 ± 2.3	20.4 ± 2.5	0.489 ± 0.071	79.2 ± 6.8	8.0 ± 1.2
Clavulansäure	(a)	0.082 ± 0.012	0.0154 ± 0.0009	46.9 ± 3.0	5.51 ± 0.5	6.1 ± 0.6	0.675 ± 0.052	53.7 ± 6.1	3.52 ± 0.29
	(b)	0.0467 ± 0.0151	0.0162 ± 0.0013	45.4 ± 3.2	7.7 ± 1.1	8.0 ± 1.0	0.95 ± 1.3	75.1 ± 5.5	3.89 ± 0.51

Tab. 5: Harnausscheidung von Amoxicillin und Clavulansäure 0 - 6 h nach Gabe von 500 mg Amoxicillin und 125 mg Clavulansäure als Einzelsubstanz bzw. als Kombination

	Amoxicillin - Urinkonzentration in mg		Clavulansäure - Konzentration in mg	
	Amoxicillin	Kombination	Clavulansäure	Kombination
0 - 2 h	174.0 ± 45.5	186.1 ± 44.2	33.1 ± 4.7	45.5 ± 6.8
2 - 4 h	140.2 ± 24.9	145.6 ± 25.1	11.8 ± 1.8	24.3 ± 4.7
4 - 6 h	27.2 ± 5.0	33.8 ± 9.6	1.9 ± 0.3	4.4 ± 8.9
0 - 6 h	341.3 ± 65.8	374.4 ± 63.9	46.8 ± 6.8	70.9 ± 12.3

Mittelwerte ± Standardabweichung

Tab. 6: Clavulansäure - Serumkonzentrationen in mg/l
Applizierte Substanz: Clavulansäure 125 mg

VP. - Nr.	Geschl.	KG (kg)	Alter	Serumkonzentrationen nach Minuten							
			(J)	0	20	40	60	90	120	180	240	360
1	m	66	25	0	2.70	6.10	4.10	3.10	1.76	0.66	0.23	0.20
2	m	71	28	0	1.43	3.08	2.52	2.03	0.76	0.30	0.20	0
3	m	82	27	0	0.20	2.50	3.00	2.30	1.50	0.43	0.20	0.20
4	m	75	27	0	0.70	2.35	4.00	2.70	1.54	0.68	0.37	0
5	m	60	26	0	0.27	3.10	3.40	2.70	2.30	0.97	0.32	0
6	m	60	30	0	0.73	3.30	3.45	1.98	1.98	0.20	0.20	0.20
7	w	69	24	0	0.90	5.30	5.40	4.30	2.85	0.86	0.49	0.20
8	w	50	23	0	0.95	3.60	4.10	3.10	2.26	0.80	0.39	0.20
9	w	60	27	0	0.57	4.30	4.30	3.10	2.45	0.90	0.49	0.20
10	w	63	24	0	0.33	3.30	2.94	2.10	1.34	0.51	0.20	0
11	w	54	23	0	1.10	3.90	3.70	2.00	1.06	0.49	0.20	0
12	w	52	29	0	0.32	2.15	1.94	1.08	0.81	0.30	0.20	0
Mittelwert $\bar{x}$			26.1	0	0.85	3.58	3.57	2.54	1.72	0.59	0.29	0.10
Standardabweichung $s_{\bar{x}}$				0	0.66	1.12	0.87	0.78	0.64	0.25	0.11	0.10

Tab. 7: Clavulansäure - Serumkonzentrationen in mg/l
Applizierte Substanz: Augmentan^{R} 625 mg (= 500 mg Amoxicillin + 125 mg Clavulansäure)

Vp. - Nr.	Geschl.	KG (kg)	Alter	Serumkonzentrationen nach Minuten							
			(J)	0	20	40	60	90	120	180	240	360
1	m	66	25	0	0.20	1.33	2.75	6.49	2.86	1.04	0.20	0.20
2	m	71	28	0	1.76	3.60	3.40	2.85	1.52	0.59	0.26	0
3	m	82	27	0	0	1.60	3.46	2.90	2.26	1.08	0.49	0
4	m	75	27	0	1.90	5.60	5.00	3.46	2.20	0.89	0.47	0
5	m	60	26	0	0.20	2.10	2.90	2.66	1.72	0.58	0.20	0.20
6	m	60	30	0	0.37	3.40	5.40	5.00	2.95	1.10	0.52	0.20
7	w	69	24	0	0.20	0.20	1.85	5.61	6.16	2.64	1.26	0.20
8	w	50	23	0	0	0.42	1.68	2.90	2.35	0.81	0.37	0.20
9	w	60	27	0	0.35	5.39	9.03	4.90	5.46	1.58	0.88	0.20
10	w	63	24	0	0	0.50	1.02	0.98	0.81	0.61	0.28	0
11	w	54	23	0	1.10	2.16	2.30	3.05	3.30	1.80	0.94	0.20
12	w	52	29	0	1.62	3.06	3.86	3.99	3.50	2.00	1.08	0.20
Mittelwert $\bar{x}$			26.1	0	0.64	2.45	3.55	3.73	2.92	1.23	0.58	0.13
Standardabweichung $s_{\bar{x}}$				0	0.50	1.74	2.06	1.46	1.48	0.62	0.35	0.09

Tab. 8: Clavulansäure - Urinkonzentrationen in mg/l
Applizierte Substanz: (a) = Clavulansäure 125 mg
(b) = Augmentan^{R} 625 mg (= 5oo mg Amoxicillin + 125 mg Clavulansäure)

VP. - Nr.	Geschl.	KG (kg)	Alter (J)	Urinkonzentrationen nach Stunden 0 (a+b)	0-2 (a)	0-2 (b)	2-4 (a)	2-4 (b)	4-6 (a)	4-6 (b)
1	m	66	25	0	61.53	52.58	14.27	22.57	2.30	2.01
2	m	71	28	0	14.84	32.54	23.25	6.56	0.71	1.79
3	m	82	27	0	16.81	35.65	8.24	19.78	0.97	4.38
4	m	75	27	0	31.88	66.93	12.62	15.81	1.88	2.77
5	m	60	26	0	25.72	16.30	2.07	8.74	0.89	4.09
6	m	60	30	0	40.82	58.25	18.23	20.26	3.26	1.84
7	w	69	24	0	64.15	83.27	20.17	58.34	4.23	11.05
8	w	50	23	0	28.62	17.21	9.57	16.73	2.21	1.67
9	w	60	27	0	36.62	74.10	11.55	25.04	2.71	4.40
10	w	63	24	0	18.16	12.63	6.60	9.38	1.69	2.52
11	w	54	23	0	38.65	38.19	10.06	48.72	1.55	7.02
12	w	52	29	0	18.86	58.51	4.71	39.28	0.79	9.31
Mittelwert $\bar{x}$			26.1	0	33.06	45.51	11.78	24.27	1.93	4.40
Standardabweichung $s_{\bar{x}}$					15.74	22.62	6.07	15.62	1.04	3.00

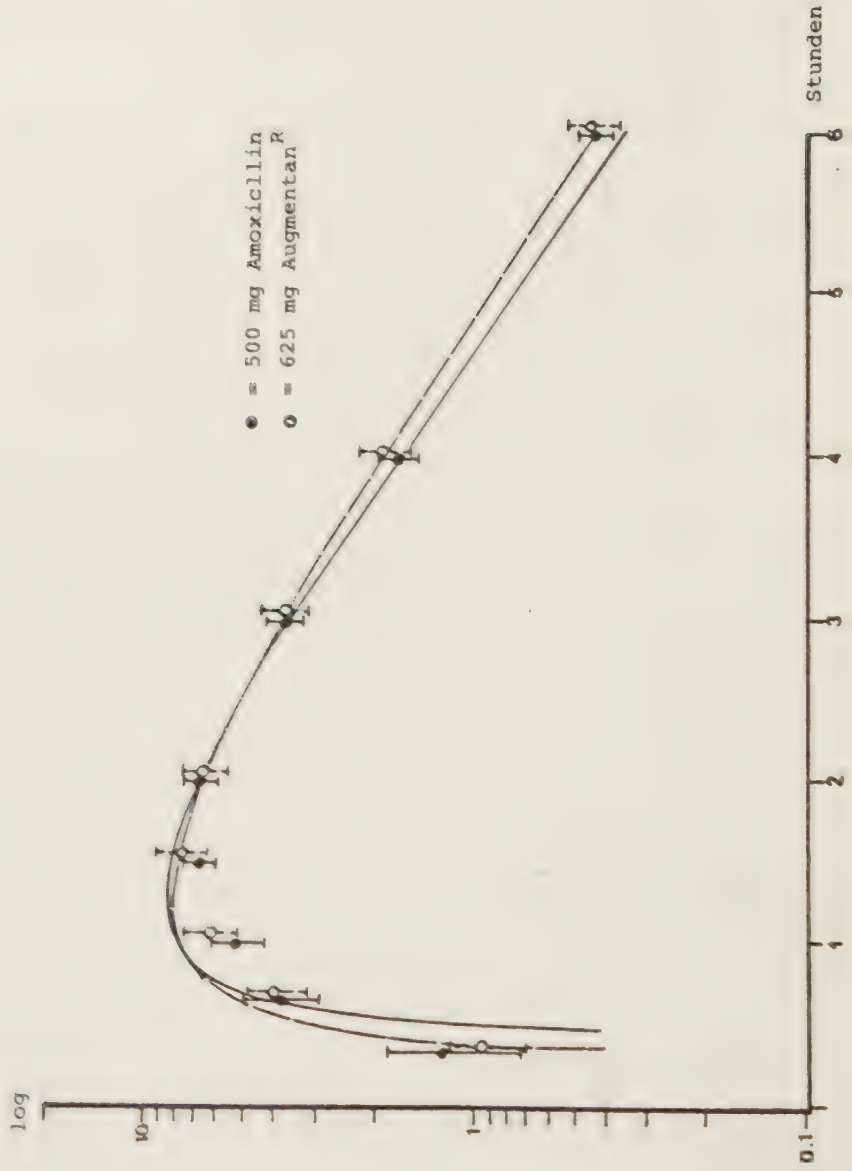


Abb. 5: Halblogarithmische Darstellung der Serumkonzentration von Amoxicillin in mg/l nach Gabe von 500 mg Amoxicillin als Einzelsubstanz bzw. in Kombination mit 125 mg Clavulansäure (= Augmentan 625 mg)

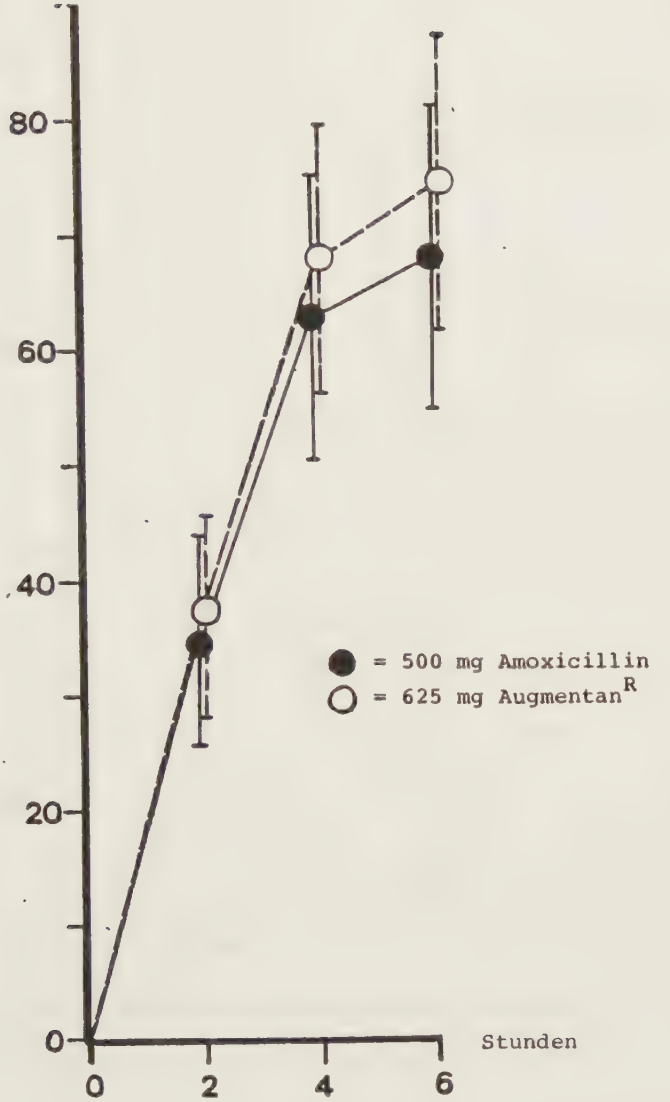


Abb. 6: Darstellung der prozentualen Urinausscheidung von Amoxicillin nach Gabe von 500 mg Amoxicillin als Einzelsubstanz bzw. in Kombination mit 125 mg Clavulansäure (= 625 mg Augmentan R)

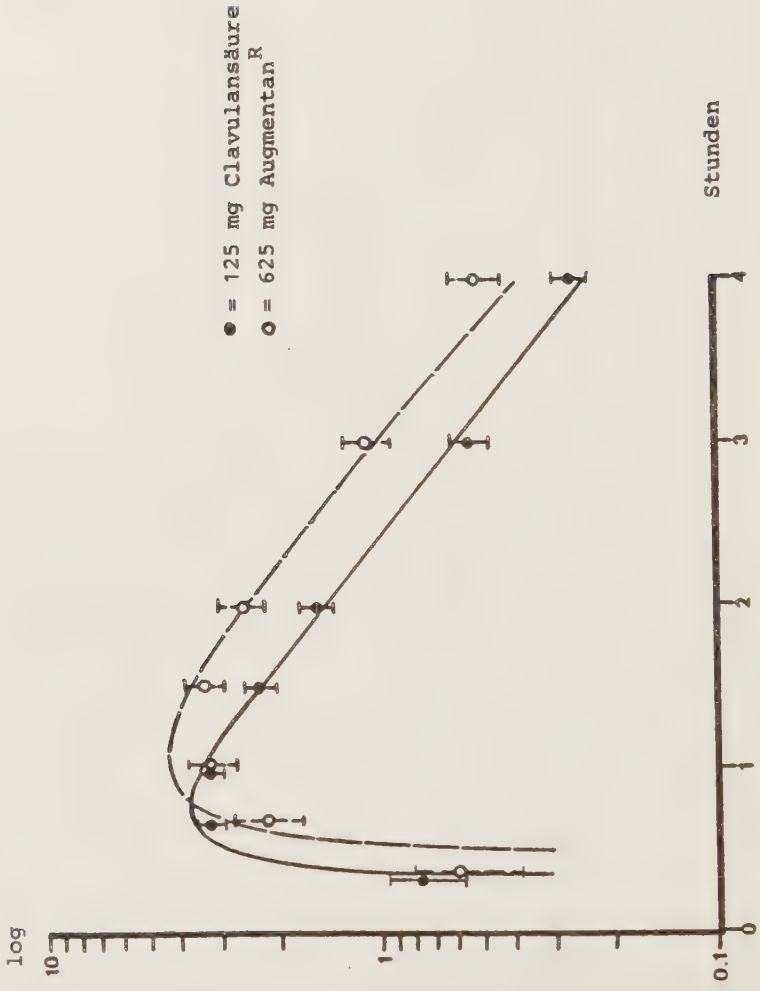


Abb. 7: Halblogarithmische Darstellung der Serumkonentration von Clavulansäure in mg/l nach Gabe von 125 mg Clavulansäure als Einzelsubstanz bzw. in Kombination mit 500 mg Amoxicillin (= 625 mg Augmentan®)

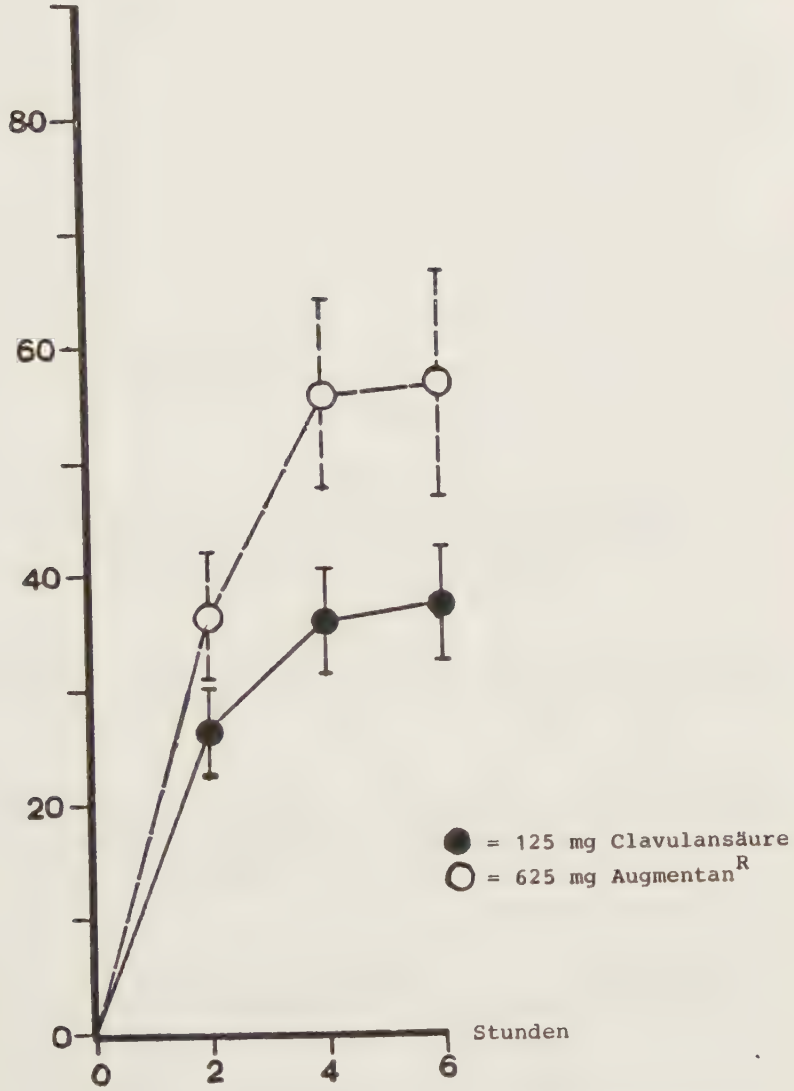


Abb. 8: Darstellung der prozentualen Urinausscheidung von Clavulansäure nach Gabe von 125 mg Clavulansäure als Einzelsubstanz bzw. in Kombination mit 500 mg Amoxicillin (= 625 mg Augmentan^{R})

Literaturverzeichnis

(1) Adam, D., W. Bauer, B. Seitz u. I. Voigt, 1979, Pharmakokinetische Untersuchungen mit Breitspektrum - Penicillin/Oxacillin - Kombinationen bei freiwilligen Probanden, Arzneim. Forsch. 29 (II), 1769 - 1804

(2) Dalhoff, A., P. Koeppe u. D. von Kobyletzki, 1981, Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Amoxicillin nach intravenöser, intramuskulärer und oraler Applikation, Arzneim. Forsch. 31, 1148 - 1157

(3) Dost, F. H., Grundlagen der Pharmakokinetik, 1968, Stuttgart, Georg Thieme Verlag

(4) Fisher, J., L. Charnas and J. R. Knowles, 1978, Kinetic studies on the inactivation of escherichia coli RTEM ß-lactamase by clavulanic acid, Biochemistry, Vol. 17, 2180 - 2189

(5) Gladtke E., H. M. von Hattingberg, 1977, Pharmakokinetik, 2. überarb. Auflage, Berlin, Heidelberg, Springer - Verlag

(6) Hunter, P., K. Colemann, J. Fisher and D. Taylor, 1980, In vitro synergistic properties of clavulanic acid with ampicillin, amoxycillin and ticarcillin, J. Antimicrob. Chemoth. 6, 455 - 470

(7) Jackson, D., D. L. Cooper, T. L. Hardy, P. F. Langley, D. H. Staniforth and J. A. Sutton, 1980, Pharmacokinetic, toxicological and metabolic studies with augmentin, Excerpta Med. Int. Congr. Ser., 544, 87 - 111

(8) Koeppe, P. u. C. Hamann, 1978, Zwei Methoden zur Parameterschätzung nichtlinearer Regressionsfunktionen bei fehlerbehafteten Meßdaten, EDV Med. Biol. 9, 112 - 117

(9) Koeppe, P. and C. Hamann, 1980, Program for nonlinear regression analysis to be used on desk - top - computers, Comput. Programs Biomed. 12, 121 - 128

(10) Leigh, D. A., D. Bradnock and J. M. Marriner, 1981, Augmentin (amoxicillin and clavulanic acid) therapy in complicated infections due to ß-lactamase producing bacteria, J. Antimicrob. Chemoth. 7, 229 - 236

(11) Mizen, L., K. Bhandari, J. Sayer and E. Catherall, 1981, Pharmacokinetics and distribution of Augmentin (amoxicillin/clavulanic acid) in laboratory animals. Drugs Exptl. Clin. Res. 7, 263 - 267

(12) Nelson, J. D., H. Kusmiesz and S. Shelton, 1982, Pharmaxokinetics of potassium clavulanate in combination with amoxicillin in pediatric patients. Antimicrob. Agents Chemother. 21, 681 - 682

(13) Neu, H. C. and K. P. Fu, 1978, Clavulanic acid, a novel inhibitor of ß-lactamases, Antimicrob. Agents Chemother. 14, 650 - 655

(14) Nordström, K. and R. B. Sykes, 1974, Induction kinetics of ß-lactamase biosynthesis in pseudomonas aeruginosa, Antimicrob. Agents Chemother. 6, 734 - 740

(15) Peters, G., G. Pulverer and M. Neugebauer, 1980, In - vitro - activity of clavulanic acid and amoxicillin combined against amoxicillin - resistant bacteria, Infection 8, 104 - 106

(16) Reading, C. and M. Cole, 1977, Clavulanic acid: a beta-lactamase inhibiting beta-lactam from Streptomyces clavuligerus, Antimicrob. Agents Chemother. 11, 852 - 857

(17) Reading, C. and P. Hepburn, 1979, The inhibition of staphylococcal ß-lactamase by clavulanic acid, Biochem. J. 179, 67 - 76

(18) Reeves, D. S., M. J. Bywater and H. A. Holt, 1978, Antibacterial synergism between beta-lactam antibiotics: results using clavulanic acid (BRL 14151) with amoxicillin, carbenicillin or cephaloridine, Infection 6, 9 - 15

(19) Richmond, M. H. and R. B. Sykes, 1973, The ß-lactamases of gram - negative bacteria and their possible physiological role, Advances in Microbiol. Physiol. 9, 31 - 88

(20) Ritschel, W. A., 1980, Handbook of basic pharmacokinetics, 2nd ed., Drug Intelligence Publications, Inc., Hamilton, III.

(21) Saito, A., 1982, The pharmacokinetics of BRL 25000 - Augmentin in humans, Excerpta Med. Int. Congr. Ser. 590, 34 - 46

(22) Spratt, B. G., V. Jobanputra and W. Zimmermann, 1977, Binding of thienamycin and clavulanic acid to the penicillinbinding proteins of Escherichia coli K-12, Antimicrob. Agents Chemother. 12, 406 - 409

(23) Sykes, R. B. and M. Matthew, 1976, The beta-lactamases of gram - negative bacteria and their role in resistance to beta-lactam antibiotics, J. Antimicrob. Chemoth. 2, 115 - 157

(24) von Landuyt, H. W., M. Pyckavet and A. M. Lambert, 1981, Comparative activity of BRL 25000 with amoxicillin against resistant clinical isolates, J. Antimicrob. Chemoth. 7, 65 - 70

Herrn Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Dieter Adam möchte ich danken für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Prof Dr. ing. Peter Koeppe danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Computerauswertung der Arbeit.

Ebenso bedanke ich mich bei Frl. Voigt und Frl. E. Schmidt für die Unterstützung.

Lebenslauf

Am 7.9.1956 wurde ich als dritte Tochter des Diplom - Ingenieurs Cornelis de Visser und seiner Frau Catharina, geb. Middelham in Nieuwer - Amstel/Niederlande geboren.
Durch eine berufliche Versetzung meines Vaters nach Lindenberg/Lindau wurde ich im September 1962 in die Volksschule Weißensberg/Lindau eingeschult. Durch eine nochmalige berufliche Versetzung meines Vaters nach Langen/Hessen bedingt, wechselte ich an die dortige Albert - Schweitzer - Volksschule. Ab 1966 besuchte ich das Dreieich - Gymnasium in Langen und erhielt am 13.5.1975 das Zeugnis der allgemeinen Hochschulreife.
Von 1976 - April 1979 studierte ich an der Ludwig - Maximilian - Universität in München Humanmedizin. Im Sommersemester 1979 wechselte ich an die Technische Universität München und bestand hier im April 1982 das dritte medizinische Staatsexamen. Nach Erhalt der Approbation erhielt im ab 1.11.1983 eine internistische Anstellung an der Rheumaklinik in Bad Feilnbach.